

カスケード選択型分子動力学シミュレーションで実現する

環状ペプチドの膜透過シミュレーション

Membrane Penetrations of Cyclic Peptides Predicted by Parallel Cascade Molecular Dynamics Simulation

代表者氏名 原田 隆平

所属 筑波大学 計算科学研究センター

1. 研究目的

本研究では、独自に開発した生体分子系のレアイベントサンプリング法である Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS-MD) を環状ペプチドの膜透過シミュレーションに適用し、生体膜を透過する構造遷移を抽出・解析する。環状ペプチドは、合成上のコストが安価（中分子）であることに加え、構造が環状であることから、生体内に取り込まれた際に分解されにくく、標的分子と相互作用して効率的に活性を阻害することができるため、創薬研究において有用性が注目を浴びている。故に、環状ペプチドの設計に PaCS-MD を活用し、膜透過プロセスを抽出し、構造情報を取得することは、将来の創薬研究に新たなブレークスルーをもたらす可能性を有する。

PaCS-MD を適用した研究詳細として、膜透過する確率が高い薬剤分子の構造に関して、反応座標を定義することで重要な初期構造を特定し、短時間の分子動力学シミュレーション (MD) のリスタートを繰り返すことで、膜外から膜内へ透過させ、再び膜外へ薬剤分子を排出するレアイベントを抽出する (PaCS-MD による膜透過プロセス抽出の概念に関しては、図 1 を参照)。更に、環状ペプチドの膜透過プロセスに伴う

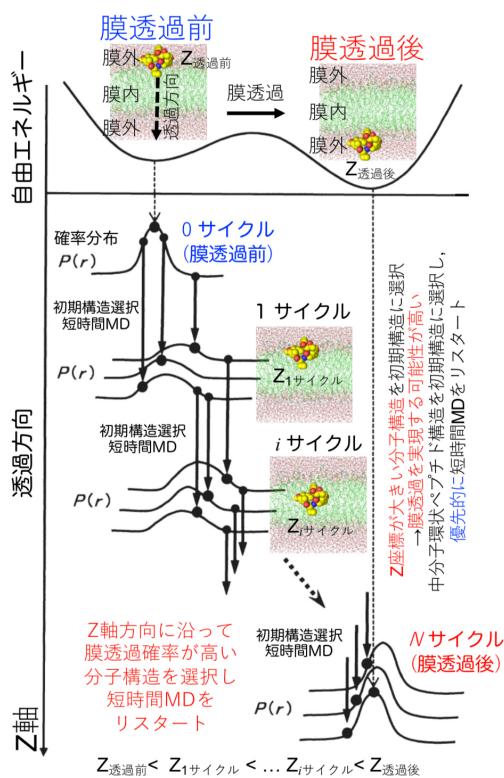


図 1: PaCS-MD による膜透過プロセス抽出

構造変化を解析し、マルコフ状態モデルを構築後、自由エネルギー地形を計算することで、実際に環状ペプチドが膜内を透過する際にどのような特徴的な構造変化をしているのか、また、そのプロセスに関してどれくらいの大きさの自由エネルギー障壁が存在しているのかを定量的に解析する。また、解析結果に基づき出来るだけ効率的に膜透過し、かつ細胞内で標的分子と相互作用し、活性阻害した後に効率的に膜外へ排出されるには、どのようなアミノ酸構成要素が必要になるのかも合わせて検討し、環状ペプチド設計に有益な情報を提供する方法論へと発展させる。

2. 研究成果の内容

本研究では、現実的な計算コストで膜透過プロセスを抽出するために、PaCS-MD を適用した。PaCS-MD は、生体分子の機能発現に重要な長時間ダイナミクス（レアイベント）を効率的に抽出する計算手法である。具体的には、中分子環状ペプチドの膜透過プロセスをレアイベントと見なして PaCS-MD を用いて抽出し、膜透過に伴う構造変化を原子レベルの分解能で解析した。膜透過性を定量的に評価するために、抽出した膜透過プロセスの時系列データ（原子座標トラジェクトリ）からマルコフ状態モデルを構築し、膜透過に伴う自由エネルギーを計算した。自由エネルギー情報から、膜透過時の特徴的な構造変化を抽出すると共に、膜透過を実現するにはどれ程の自由エネルギー障壁が存在するのか、また、設計した環状構造（アミノ酸配列）と相関があるのかを考察した。これにより、合理的な中分子医薬を実現する設計情報を提供可能な方法論を構築することができた。具体的なモデル計算として、モデル環状ペプチドの膜透過プロセスの抽出に開発手法を適用し、膜透過に伴う自由エネルギー計算を実行した。詳細な自由エネルギープロファイル解析により、膜侵入時に環状ペプチドは大規模な構造変化を伴うことを明らかにした。物理化学的には、親水性が高い膜外領域では疎水残基を外側に配置した分子の大きさ（慣性半径）が大きな構造をとる確率が高いが、疎水性が高い膜内部では疎水機を内側に配置した慣性半径が小さい構造に遷移することが分かった。膜透過時の構造変化として各々の残基の二面角が大きくフリップすることが観測され、より合理的に疎水性残基を内外に構造変化させることで膜透過性を高めていることが分かった。通常の MD ではこのような環状ペプチド内の大規模な二面角変化を伴うレアイベントを抽出することが難しく、本研究で適用したレアイベントサンプリング法の重要性を示すことができた。

3. 学際共同利用が果たした役割と意義

環状ペプチドの膜透過プロセスは、従来の MD で抽出困難なレアイベントである。故に、PaCS-MD を実行することで、レアイベント抽出確率を上昇させることが必要である。学際共同利用が果たした役割は、Cygnum 上で GPU により加速された GROMACS や NAMD などの汎用ソフトウェアを利用して PaCS-MD を実行し、効率

的に環状ペプチドの膜透過プロセスを抽出することができたことである。また、PaCS-MD は初期構造の異なる独立な短時間 MD を出来るだけ多くの計算ノードを利用して実行することが必要であり、これらを Cygnus 上の多数の計算ノードで実行することができたため、効率的に膜透過プロセスを抽出することができた。結果的に、Cygnus に搭載された GPU の計算性能を最大限に利用し、多くの計算ノードをフル活用することで PaCS-MD を実行できたことにおいて、大きな意義を持つと考える。

4. 今後の展望

今後の研究発展としては、実際に存在する環状ペプチドに適用し、実用性を検証していくことで、実際の創薬研究にどれくらい応用可能なのかが、検証していきたい。また、本研究で開発した一連の計算スキームをパッケージ化し、実験研究者が実際に合成した環状ペプチドの膜透過性評価を容易に実行できる形に公開していくことを検討したい。学際共同利用の研究成果は現在論文執筆中であり、投稿準備の段階である。

5. 成果発表

(1) 学術論文

1. Ryuhei Harada, Sladek Vladimir, Yasuteru Shigeta, “Non-targeted Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics Using Time-localised Prediction of Conformational Transitions in Protein Dynamics”, *Journal of Chemical Theory and Computation*, **15**, 5144-5153 (2019)
2. Ryuhei Harada, Vladimir Sladek, Yasuteru Shigeta, “Non-targeted Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics Based on a Non-Redundant Selection Rule for Initial Structures Enhances Conformational Sampling of Proteins”, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **59**, 5198-5206 (2019)
3. Ryuhei Harada, Sladek Vladimir, Yasuteru Shigeta, “Developments of Rare Event Sampling Methods for Proteins”, *Journal of Computational Chemistry Japan*, **18**, 199-201 (2019)
4. Ryuhei Harada, Sladek Vladimir, Yasuteru Shigeta, “Protein Dynamics and the Folding Degree”, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **60**, 1559-1567 (2020)

(2) 学会発表

1. 原田隆平, “データ駆動型分子動力学シミュレーションに立脚した効率的タンパク質構造サンプリング手法の開発”, 第 408 回 CBI 学会講演会 「分子シミュレーション技術の新たな展望～AI 活用, 高精度力場, データ駆動型シミュレーション」 (2019 年 7 月 16 日)

2. 原田隆平, “*in silico* タンパク質設計を実現する分子シミュレーション手法の開発”, 生物工学会シンポジウム“*in silico* タンパク質設計で加速するタンパク質工学・応用構造生物学” (2019年9月18日)
3. 原田隆平, “生体機能を解明する分子シミュレーション手法の開発と応用”, 筑波大学 プレ戦略研究会「生命から学ぶ」(2019年10月10日)
4. 原田隆平, “レアイベントサンプリング法の開発と応用研究”, 日本コンピュータ化学会 2019年 秋季年会 (2019年10月24日)
5. 原田隆平, “中分子環状ペプチドの膜透過性を評価する分子シミュレーション手法の開発”, 計算メディカルサイエンス事業部発足キックオフシンポジウム (2019年12月6日)
6. 原田隆平, “タンパク質の機能発現に重要なレアイベントを抽出するサンプリング手法の開発 (2019年度 分子シミュレーション学会 学術賞 受賞講演”, 第33回分子シミュレーション討論会 (2019年12月10日)
7. 森田陸離, 會田勇斗, 中野賢太郎, 原田隆平, 重田育照 “分子動力学計算を用いた分裂酵母の α -アクチニン Ain1 のアクチン結合様式の解析”, 日本コンピュータ化学会 2019年秋季年会 (2019年10月24日)
8. 森田陸離, 會田勇斗, 中野賢太郎, 原田隆平, 重田育照 “分裂酵母 α -actinin Ain1 に関する分子動力学および細胞生物学的解析”, 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会 (2019年6月25日)
9. 森田陸離, 會田勇斗, 中野賢太郎, 原田隆平, 重田育照 “分裂酵母のアクチン東化タンパク質 Ain1 の分子動力学的検討”, 第46回生体分子科学討論会 (2019年6月21日)
10. 會田勇斗, 原田隆平, 重田育照 “分子動力学シミュレーションで解き明かす味覚受容体タンパク質のリガンド結合機構”, 第19回日本蛋白質科学会年会 (2019年6月24日)
11. Hayato Aida, Ryuhei Harada, Yasuteru Shigeta “A Theoretically Study of ATP Effect on Solubility of Intrinsically Disordered Protein under Crowded Environment”, 第57回日本生物物理学会年会 (2019年9月24日)
12. 會田勇斗, 原田隆平, 重田育照 “液-液相分離に関与する FUS 天然変性領域の分子動力学シミュレーション”, 日本コンピュータ化学会 2019 秋季年会 (2019年10月24日)
13. 會田勇斗, 重田育照, 原田隆平 “PaCS-MD を用いた新規リガンド結合経路探索手法の開発と応用”, 第33回分子シミュレーション討論会 (2019年12月9日)

(3) その他

1. 原田隆平, 2019年度 分子シミュレーション学会 学術賞 受賞

使用計算機	使用計算機 に○	配分リソース*	
		当初配分	追加配分
Cygnus	○	30,000	0
Oakforest-PACS			
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。			